逐次抽出による農耕地土壌における有機塩素系農薬の エージング過程評価の試み

清家 伸康, 小原 裕三, 大谷 卓

独立行政法人農業環境技術研究所 (〒305-8604 茨城県つくば市観音台3-1-3)

[平成24年3月26日受付, 平成25年1月30日受理]

Application of Sequential Solvent Extraction for Characterization of Long Time Aging of Organochlorine Pesticides in Agricultural Soil

Nobuyasu SEIKE, Yuso KOBARA and Takashi OTANI

National Institute for Agro-Environmental Sciences
(3-1-3 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8604)

[Received March 26, 2012; Accepted January 30, 2013]

Summary

Long time aging of organochlorine pesticides (OCPs) in agricultural soil was characterized by the sequential solvent extraction using series of shaking with 50% methanol-aq and *n*-butanol, and finally soxhlet extracted with dichloromethane. First, the extractability and the organic carbon normalized adsorption coefficient (*K*_{oc}) of OCPs by these solvents were calculated to characterize the sequential extraction using 3 type soils. The 50% methanol-aq extractability of OCPs with low *n*-octanol water partition coefficient (*K*_{ow}) values in soil with low organic carbon content tended to be high. The *K*_{oc} of OCPs extracted by 50% methanol-aq tended to be related with *K*_{ow}.

The exhaustive and the sequential extraction were applied to the paddy soil preserved since 1960s to characterize the long time aging of OCPs in soils. Although OCPs concentrations in paddy soil obtained by the exhaustive extraction have decreased since 1960s, recent decreasing rate is very slow. The half-lives of OCPs for disappearance from the paddy soils were estimated to be ~ 5 years from 1960s to 1970s, around 10 years from 1980s to 1990s, respectively. The extractability of α -HCH with the 50% methanol-aq by shaking has been decreased. Additionally, the extractability of α -HCH with the dichloromethane by soxhlet has been increased gradually. On the other hand, the changes in temporal extractabilities of dieldrin and *p,p'*-DDT was not found. These results can be indicated that long time aging of α -HCH among OCPs in agricultural soil for a half century can be found by the sequential solvent extraction.

Key words: Organochlorine pesticides, POPs, Soil, Aging, Availability

1. はじめに

国際的に協調して残留性有機汚染物質 (Persistent Organic Pollutants, POPs) の削減, 廃絶等を推進するため, 2004年5月残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約が発効した。POPsに指定された物質のうち, そのほとんどはDDTといった有機塩素系農薬である。日本の農耕地では相当量の有機塩素系農薬が使用され, それらの原体あたりの出荷量^{1,2)}は, ヘキサクロシクロヘキサン類 (HCHs): 380,000トン (BHCとして), ヘプタクロル: 1,500トン, クロルデン: 250トン, DDT: 23,000トン, アルドリン: 2,500トン, エンドリン: 1,500トン, デルドリン: 683トン, ヘキサクロベンゼン (HCB): 農薬登録無し, であり, ほとんどの有機塩素系農薬は1970年前後に農薬登録が失効した。これらの

有機塩素系農薬およびその代謝物 (OCPs) は, 農耕地に残留するのみならず, 農耕地から流出し, 河川・海洋底質等の水圏環境に残留している, あるいは, 農耕地から大気を介して極域へと移動³⁻⁵⁾する。さらに, 一部は微生物に取り込まれ分解され, これらの過程は, 農耕地土壌中 OCPs の消失の主要因⁶⁾とされる。

土壌における有機化合物の挙動を経年的に評価する場合, Aging (エージング) は重要な概念である。エージングは, 土壌に投入された有機化合物が時間の経過とともに Bound residue (ボンドレジデュー) を形成, 或いは土壌吸着が弱い画分の気化や微生物による分解, 吸脱着を繰り返すことによる土壌の間隙や細孔への移動等⁷⁾により, Availability (アベイラビリティ) が減少することを示す。ここで, ボンドレジデューとは, 有機化合物が共有結合等により土壌と強固に吸着することを意味する⁸⁾。一方, 土壌から水や大気と

いった媒体間の移動しやすさ、および、土壤生物や植物への取り込まれやすさの両者を合わせて、アベイラビリティと表現する⁷⁾。

ボンドレジデューを評価する場合、通常、強酸や熱アルカリといった土壤鉱物から腐植物質を遊離・分解することの出来る抽出溶媒が用いられる。例えば、日本の水田で除草剤として使用された CNP (4-nitrophenyl 2,4,6-trichlorophenyl ether) の場合、水田のような湛水条件下では、ニトロ基がアミノ基に変換されるため、腐植物質と強固に吸着し、アベイラビリティが極めて低いボンドレジデューを形成する。したがって、CNP のアミノ体を抽出する際は、熱アルカリにより抽出しなければならない⁹⁾。一方、極性の官能基を有しない OCPs の場合、土壤中の腐植物質、いわゆる土壤有機炭素 (SOC) との間で疎水結合により吸着しているため、ボンドレジデューの場合と比べるとその吸着力は弱い。

土壤中 OCPs や多環芳香族炭化水素 (PAHs) といった半揮発性有機化合物 (Semi volatile organic compounds, SVOCs) のアベイラビリティは、土壤と水や大気といった媒体間の分配を測定する方法¹⁰⁾ や、抽出方法の選択等による化学分析法¹¹⁻¹³⁾、生物検定^{12,14,15)}、あるいは化学分析法と生物検定法を同時に行うこと^{13, 16, 17)} で評価が行われている。SVOCs の土壤と水との分配は、土壤吸着平衡係数 (K_d) や SOC 含量で補正した土壤吸着平衡係数 (K_{oc}) で示される。土壤と大気との分配については、土壤を通気し、土壤から気化した SVOCs をポリウレタンフォーム等の吸着剤で捕集している¹⁰⁾。一方、化学分析法については、有機溶媒¹¹⁾、シクロデキストリン¹²⁾ や Tenax¹³⁾ 等を用いて土壤中の SVOCs を抽出している。生物検定については、ミミズによる PCBs のアベイラビリティを評価した例がある。Krauss ら¹⁴⁾ は、PCBs が残留した土壤でミミズを飼育した結果、ミミズ中濃度を土壤中濃度で除すことで得られる PCBs の Biota-to-soil accumulation factor (BSAF) が、PCBs のオクタノール・水分配係数 (K_{ow}) との間に負の相関関係にあることを明らかにした。化学分析法と生物検定を同時に行った例として、キュウリによる 9 種の土壤中デイルドリンのアベイラビリティを評価した例がある。Sakai ら¹⁷⁾ は、土壤中デイルドリンのキュウリへの移行率が SOC 含量との間に負の相関関係にあることを明らかにした。さらに、土壤中に残留するデイルドリンを全量抽出するよりも、50 % メタノール・水 (v/v) により土壤中に残留するデイルドリンの一部を SOC 含量に応じて抽出することでキュウリによるアベイラビリティを評価できることを示した。以上のように、SVOCs の物性値および SOC 含量がアベイラビリティに大きく関与し、それらに応じて土壤から一部の SVOCs を捕集、抽出することでアベイラビリティが評価されている。

エージング過程の評価は、アベイラビリティ評価法を経時的に適用することで行われている。例えば、Ma ら¹⁸⁾ は、フェナントレンとピレンを土壤に添加し、ミミズの BSAF を算出した。その結果、経時的にピレンとベンゾ [a] ピレンの BSAF が減少することを示した。Macleod ら¹⁹⁾ は、ピレンを土壤に添加後、経時的に土壤を採取し、50 % メタノール・水 (v/v)、*n*-ブタノール、ジクロロメタンにより逐次抽出した。その結果、50 % メタノール・水 (v/v) で抽出されたピレンの割合は添加直後に比べ経時的に減少していたが、ジクロロメタンで抽出されたピレンの割合は経時的に増加していた。50 % メタノール・水 (v/v) で抽出されたピレンの割合の減少については、滅菌、非滅菌土壤との比較から、ピレンを添加後 8 週間程度は物理的な過程、それ以後は微生物分解を要因として挙げている。一方、ジクロロメタンで抽出されたピレンの割合の増加については、滅菌、非滅菌土壤においてジクロロメタンで抽出されたピレンの割合の差は観察されず、土壤と強く吸着したピレンの割合が経時的に増加することを要因として挙げた。このように、土壤を

逐次抽出することによりピレンのエージング過程を明らかにすることが出来る。しかし、これらの研究のほとんどが数週間～数ヶ月程度の試験であり、数十年間といった長期間にわたるエージング過程の評価を行った例は極めて少ない。さらに、各物質の抽出率や土壤への吸着性の関係に関する十分な検討が行われていないため、他の物質への適用可能性も不明である。

そこで本研究では、特殊な資材や機器を必要としない Macleod ら¹⁹⁾ が行った逐次抽出法を SOC 含量の異なる 3 種類の土壤に適用し、OCPs の逐次抽出率や吸着性を確認した。さらに、1960 年代より採取・保存されている日本農耕地 (水田) 土壤に逐次抽出を適用し、長期 (約 40 年間) にわたる土壤中 OCPs のエージング過程の評価を試みた。

2. 実験方法

2. 1 試料

各種土壤中 OCPs の逐次抽出率および吸着性を評価するために、現在も畑として使用されている SOC 含量の異なる 3 種類の土壤 [砂丘未熟土 (Arenosol)、褐色低地土 (Fluvisol)、黒ボク土 (Andosol)] を採取した。土壤分類の日本語名は農耕地土壤分類第 3 次改訂版²⁰⁾、英名は World reference base for soil resources 2006²¹⁾ に従った。土壤は風乾後 2 mm で篩別し、1 L ガラス瓶に冷蔵保存した。なお試験前にこれらの SOC 含量を乾式燃焼法²²⁾ により測定した結果、それぞれ、0.5 %、1.9 %、7.9 % であった。

一方、土壤中 OCPs のエージング過程評価のための水田土壤試料 [褐色低地土 (Fluvisol)、SOC 含量は 3.2 %] は、1960 年代以後同一圃場で経年的に採取されたものである。なお、聞き取り調査により、この圃場では土壤の入れ替えや追加は行われていないことを確認できたが、OCPs の使用履歴については入手できなかった。これらの試料は、風乾・篩別後、二重栓付きのポリエチレン瓶に暗所保存されている。今回の分析試料は、1963 年以後 2002 年までの 3 年おきの計 13 検体とした。なお、1990 年はサンプリングが行われていないので、欠損データとした。これらの試料をポリエチレン瓶から取り出す際には、開封によるコンタミネーションを考慮して、表層部を除去した。

2. 2 抽出法

土壤 8 g (乾燥重) をアセトン 300 mL でソックスレー抽出 (24 時間、50 サイクル以上) し、濃縮後メスフラスコで 100 mL に定容した。本報では、この抽出法を全量抽出と定義する。一方、Macleod ら¹⁹⁾ が行った逐次抽出法の概要を以下に記載する。土壤 8 g (乾燥重) を 50 mL のガラス製遠沈管にとり、メタノール (関東化学製) の 50 % 水溶液 [50 % メタノール・水 (v/v)] を固液比 1:5 となるように 40 mL 加え、25 °C の恒温槽において 120 rpm で 24 時間振とうした。その後 3000 rpm で 10 分間遠心分離し、上澄み液を取り出した (50 % メタノール・水画分)。次いで、*n*-ブタノール (和光純薬製) 40 mL を加え、50 % メタノール・水 (v/v) の場合と同様に、24 時間振とう、遠心分離し、上澄み液を取り出した (*n*-ブタノール画分)。最後に、土壤試料を遠沈管より取り出し、ジクロロメタン (和光純薬製) 300 mL で 24 時間ソックスレー抽出し、濃縮後 50 mL に定容した (ジクロロメタン画分)。

2. 3 分析方法

本研究で対象とした OCPs は、ヘキサクロロベンゼン (HCB)、ヘキサクロロシクロヘキサン類 (α -HCH、 β -HCH、 γ -HCH、 δ -HCH)、ヘプタクロロ類 (ヘプタクロロ、ヘプタクロロエポキシ

ド), クロルデン関連化合物 (*cis*-クロルデン, *trans*-クロルデン, *cis*-ノナクロル, *trans*-ノナクロル, オキシクロルデン), DDT 関連化合物 (*p,p'*-DDT, *o,p'*-DDT, *p,p'*-DDD, *o,p'*-DDD, *p,p'*-DDE, *o,p'*-DDE), ドリン類 (アルドリン, デイルドリン, エンドリン) である。2.2 項で得られた抽出液のうち 1/10 を分取し, クリーンアップスパイクとして ^{13}C または重水素でラベルされた OCPs ($^{13}\text{C}_6$ - α -HCH, $^{13}\text{C}_6$ - β -HCH, $^{13}\text{C}_6$ - γ -HCH, $^{13}\text{C}_6$ - δ -HCH, $^{13}\text{C}_{10}$ -ヘプタクロル, $^{13}\text{C}_{10}$ -ヘプタクロルエポキシド, $^{13}\text{C}_{10}$ -*cis*-クロルデン, $^{13}\text{C}_{10}$ -*trans*-クロルデン, $^{13}\text{C}_{10}$ -*cis*-ノナクロル, $^{13}\text{C}_{10}$ -*trans*-ノナクロル, $^{13}\text{C}_{10}$ -オキシクロルデン, $^{13}\text{C}_{12}$ -*p,p'*-DDT, D_8 -*p,p'*-DDD, $^{13}\text{C}_{12}$ -*p,p'*-DDE, $^{13}\text{C}_{12}$ -アルドリン, $^{13}\text{C}_{12}$ -デイルドリンおよび $^{13}\text{C}_{12}$ -エンドリン, 全て CIL 製) を各 10 ng 添加後, 100 mL の塩化ナトリウム (和光純薬製) の 10 % 水溶液 (w/w) と 25 mL の *n*-ヘキサン (和光純薬製) が入った 200 mL 容分液ロートに入れ, 10 分間振とう抽出した。この抽出操作を計 3 回繰り返す, *n*-ヘキサン層を無水硫酸ナトリウム (関東化学製) により脱水し, ロータリーエバポレーター (柴田科学製) により 1 mL まで濃縮した。濃縮液は, フロリジルカラム (InertSep FL, 5 g, GL サイエンス製) において *n*-ヘキサン 20 mL および 25 % ジクロロメタン含有 *n*-ヘキサン (v/v) 60 mL で分画した。後者の画分をロータリーエバポレーターで 1 mL に濃縮し, グラファイトカーボンカラム (Envi-Carb, 500 mg, SUPELCO 製) に添加後, *n*-ヘキサン 10 mL で溶出した。この溶出液とフロリジルカラムにおける *n*-ヘキサン画分とを合わせ, ロータリーエバポレーターと窒素気流下で 100 μL に濃縮した。なおシリジススパイクとして, $^{13}\text{C}_{12}$ -2,4,4'-Trichlorobiphenyl と $^{13}\text{C}_{12}$ -2,2',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl (ともに Wellington Laboratories 製) を各 10 ng 添加した。測定は ENV-8 MS (関東化学製) を装填した HRGC-HRMS (HP6890-AutoSpec-Ultima Micromass 製) を用い SIM 法で行った。

定量下限値の算出方法は, JIS K 0312²³⁾ に従った。定量下限値は, *trans*-ノナクロルの 0.001 ng/g-DW からエンドリンの 0.009 ng/g-DW であった。クリーンアップスパイクの回収率は, 48 % から 118 % の範囲であった。試験に先立ち, 日本分析化学会から頒布されている農薬成分分析用土壌認証標準物 (JSAC 0441) をアセトンによるソックスレー抽出, すなわち全量抽出を行い分析したところ ($n = 3$), デイルドリン平均濃度とその範囲は $72 \pm 2.1 \text{ ng/g}$ であり, 認証値 ($76 \pm 14 \text{ ng/g}$) の範囲内であった。なお, 3 種類の土壌を用いた逐次抽出率の評価は $n = 3$ で, 1963 年以後保存された土壌試料を用いたエージング過程の評価は $n = 1$ で行った。

2. 4 構造物性相関 (QSPR: quantitative structure-property relationship) 法による Kow の推算

Mackay ら²⁴⁾ がとりまとめた OCPs の Kow は, 例えば β -HCH では Log 値で 3.78 ~ 4.15, デイルドリンは 2.60 ~ 6.20, *p,p'*-DDT では 3.98 ~ 7.35 であり, 実測方法あるいは推算方法により値が大きく異なっている。したがって, 本研究では, 対象とした全 20 種の OCPs を同一手法で推算した。ここでは, US-EPA と Syracuse Research Corporation (SRC) が開発した構造物性相関解析プログラム The Estimation Programs Interface Suite™ (EPIsuite) を用いて Kow を推算した。EPIsuite は, 原子団寄与法により有機化学物質の諸物性を推算するプログラムである。特に, Kow については, Meylan ら²⁵⁾ の方法を基に, 塩素や芳香族炭素, 環状脂肪族炭素およびエポキシ基等の原子もしくは原子団 (官能基) の寄与を重回帰分析で評価することにより推算できる。推算に用いた分子量等主要パラメータと Kow の推算値を Table 1 に示した。

Table 1 Key parameters for estimation of *n*-octanol water partition coefficient (*Kow*) of OCPs by EPIsuite, and estimated *Kow*

	CAS No.	Molecular Formula	Molecular Weight	Estimated logKow
HCB	118-74-1	C_6Cl_6	284.78	5.73
α -HCH	319-84-6	$\text{C}_6\text{H}_6\text{Cl}_6$	290.83	3.99
β -HCH	319-85-7	$\text{C}_6\text{H}_6\text{Cl}_6$	290.83	3.99
γ -HCH	58-89-9	$\text{C}_6\text{H}_6\text{Cl}_6$	290.83	3.99
δ -HCH	319-86-8	$\text{C}_6\text{H}_6\text{Cl}_6$	290.83	3.99
Heptachlor	76-44-8	$\text{C}_{10}\text{H}_3\text{Cl}_7$	373.32	5.86
Heptachlor epoxide	1024-57-3	$\text{C}_{10}\text{H}_3\text{Cl}_7\text{O}$	389.32	4.56
<i>trans</i> -chlordane	5103-74-2	$\text{C}_{10}\text{H}_6\text{Cl}_8$	409.78	6.26
<i>cis</i> -chlordane	5103-71-9	$\text{C}_{10}\text{H}_6\text{Cl}_8$	409.78	6.26
<i>trans</i> -nonachlor	39765-80-5	$\text{C}_{10}\text{H}_3\text{Cl}_9$	444.23	6.44
<i>cis</i> -nonachlor	5103-73-1	$\text{C}_{10}\text{H}_3\text{Cl}_9$	444.23	6.44
oxychlordane	27304-13-8	$\text{C}_{10}\text{H}_4\text{Cl}_8\text{O}$	423.77	5.48
<i>p,p'</i> -DDE	72-55-9	$\text{C}_{14}\text{H}_8\text{Cl}_4$	318.03	6.00
<i>o,p'</i> -DDE	3424-82-6	$\text{C}_{14}\text{H}_8\text{Cl}_4$	318.03	6.00
<i>p,p'</i> -DDD	72-54-8	$\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{Cl}_4$	320.05	5.87
<i>o,p'</i> -DDD	53-19-0	$\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{Cl}_4$	320.05	5.87
<i>p,p'</i> -DDT	50-29-3	$\text{C}_{14}\text{H}_9\text{Cl}_5$	354.49	6.79
<i>o,p'</i> -DDT	789-02-6	$\text{C}_{14}\text{H}_9\text{Cl}_5$	354.49	6.79
Aldrin	309-00-2	$\text{C}_{19}\text{H}_8\text{Cl}_6$	364.92	6.75
Dieldrin	60-57-1	$\text{C}_{12}\text{H}_8\text{Cl}_6\text{O}$	380.91	5.45
Endrin	72-20-8	$\text{C}_{12}\text{H}_8\text{Cl}_6\text{O}$	380.91	5.45

3. 結果および考察

3. 1 土壌中 OCPs の抽出率

全量抽出による 3 種類の土壌 (砂丘未熟土, 褐色低地土, 黒ボク土) 中 OCPs の濃度は, 定量下限値以下 ~ 320 ng/g-DW (Dry Weight, 乾燥重量) の範囲であった。次いで, 逐次抽出における抽出率を次式で算出した。

$$Em = (Cm/Ca) \times 100 \quad (1)$$

$$Eb = [(Cm+Cb)/Ca] \times 100 \quad (2)$$

$$Ed = [(Cm+Cb+Cd)/Ca] \times 100 \quad (3)$$

ここで, *Em* (%) は 50 % メタノール・水画分の抽出率 (%), *Cm* は 50 % メタノール・水 (v/v) で抽出された土壌中 OCPs 濃度 (ng/g-DW), *Ca* はアセトンで全量抽出された土壌中 OCPs 濃度 (ng/g-DW), *Eb* は 50 % メタノール・水 (v/v) 画分と *n*-ブタノール画分の抽出率の合計 (%), *Cb* は *n*-ブタノールで抽出された土壌中 OCPs 濃度 (ng/g-DW), *Ed* は 50 % メタノール・水画分, *n*-ブタノール画分, ジクロロメタン画分の抽出率の合計 (%), *Cd* はジクロロメタンで抽出された土壌中 OCPs 濃度 (ng/g-DW) である。

Ed の平均値 ± データの標準偏差 (SD) は, 黒ボク土における HCB の 86 % ± 3.0 % から砂丘未熟土における δ -HCH 115 % ± 4.6 % であり, 3 種の溶媒により逐次抽出することにより, OCPs の全量が抽出されることが分かった (Fig. 1)。また, *Eb* は, いずれの土壌においても 70 % 前後抽出されており, 土壌の違いは明確でなかった。しかし, *Em* は, 砂丘未熟土で 29 ~ 64 %, 褐色低地土で 23 ~ 50 %, 黒ボク土で 2 ~ 16 % であり, SOC が少ない土壌ほど OCPs の抽出率が高く, *Kow* が小さいヘキサクロロヘキサン類やヘプタクロル等の抽出率が高い傾向にあった。

一般に, 有機化合物の土壌中への吸着は, 次式で示される

K_d (mL/g) と K_{oc} (mL/g) によって説明される²⁶⁾。

との間には正の相関関係があり、金澤は以下の関係式を得ている²⁶⁾。

$$K_d = C_s / C_w \tag{4}$$

$$K_{oc} = K_d \times 100 / OC \tag{5}$$

$$\log K_{oc} = 0.402 \times \log K_{ow} + 1.071 \tag{6}$$

ここで C_s は土壌中濃度 (ng/g-DW), C_w は水中濃度 (ng/mL), OC は土壌中の有機炭素濃度 (%) である。 K_d は、土壌-水間の化合物の分配を示すが、土壌の種類、特に SOC 含量の大小によって大きく変動するため、土壌における有機化合物の挙動、特に土壌への吸着性については SOC 含量で補正した K_{oc} で評価される。一般に、 K_{oc} が大きい化合物ほど土壌に吸着されやすく、 K_{oc} と K_{ow}

この関係式は、実験から得た各種農薬の K_{oc} を K_{ow} で回帰したものであり、Table 1 の K_{ow} を代入することにより、抽出溶媒を水にした場合の OCPs の K_{oc} が推算できる。次に、50 %メタノール・水 (v/v) で抽出した場合の $K_{oc-50\% \text{ MeOH}}$ (mL/g) と 50 %メタノール・水 (v/v) と *n*-ブタノールで抽出した場合の $K_{oc-50\% \text{ MeOH} + \text{BuOH}}$ (mL/g) を次式により算出した。

Fig.1 The extractability (%) of OCPs (mean ± S.D.) in Arensol (upper), Fluvisol (middle), Andosol (lower) by the sequential extraction

$$K_{OC-50\% \text{ MeOH}} = [(Cb+Cd)/Cms] \times 100 / OC \quad (7)$$

$$K_{OC-50\% \text{ MeOH}+BuOH} = [Cd/ (Cms+Cbs)] \times 100 / OC \quad (8)$$

ここで、 Cms は 50 % メタノール・水 (v/v) で抽出した場合の溶媒量あたりの濃度 (ng/mL), Cbs は *n*-ブタノールで抽出した場合の溶媒量あたりの濃度 (ng/mL) である。なお、式 (6) で得られる K_{OC} と比較するため、50 % メタノール・水 (v/v) と *n*-ブタノールの液比重は 1 とした。Fig. 2 に、3 種の土壌における $K_{OC-50\% \text{ MeOH}}$ と $K_{OC-50\% \text{ MeOH}+BuOH}$ および、式 (6) に推算した K_{OW} を代入し得られた K_{OC} を示した。3 種の土壌における $K_{OC-50\% \text{ MeOH}+BuOH}$ は、 K_{OW} の大小にかかわらずほぼ一定の値であった。しかし、 $K_{OC-50\% \text{ MeOH}}$ はいずれの土壌においても Log 値で 2 から 3 程度であり、式 (6) よ

Fig. 2 Relationships between K_{OC} of OCPs (mean $\pm$ S.D.) in 3 types of soils obtained by the sequential extraction, and the estimated K_{OW} (Table 1)

り得られた K_{OC} と比較すると傾きは異なるものの、正の相関関係が得られ、 K_{OW} が大きい OCPs ほど $K_{OC-50\% \text{ MeOH}}$ も大きい傾向にあった。

3. 2 土壌中 OCPs の長期エイジング過程の評価

ここでは、残留濃度が高く、かつ、 K_{OW} が異なる α -HCH、ディルドリン、*p,p'*-DDT を対象とした。OCPs 濃度は 1960 年代をピークに現在にかけて減少し、最高濃度の時期から比べると 100 分の 1 程度になっていた (Fig. 3)。ただし、1980 年代前後からは、OCPs 濃度の減少が極めて遅くなっていた。Alexander⁷⁾ は、土壌中 OCPs 濃度の経年的な推移について、OCPs を土壌に散布後、10 年程度を境に濃度の減少速度が極端に遅くなると指摘しており、本研究で対象とした水田土壌でも同じ現象が観察された。そこで、1960 ~ 1970 年代と 1980 年代以降の 2 期に分け、それぞれの期間における土壌中 OCPs の半減期を一次反応の速度式にあてはめて算出した。

$$k = - [\ln (Cx/C_0)]/t \quad (9)$$

ここで、 k : 減少係数, Cx : t 年後における濃度, C_0 : 基準年 (最高濃度の年) における濃度, t : 基準年 (最高濃度の年) 以降の経過年数である。実際には、半減期 τ は

$$\tau = \ln 2 / k \quad (10)$$

より得られる。ただし、ディルドリンについては、1970 年代前半、一時的に土壌中濃度が増える傾向にあり (Fig. 3)、当該圃場でのディルドリンの投入が推察された。一方、 α -HCH と *p,p'*-DDT については、顕著な濃度上昇がみられないため (Fig. 3)、1963 年以降の投入は無いと仮定した。なお、本研究では土壌に残留した OCPs 濃度の経年変化から半減期を算出しているため、みかけの半減期となる。1960 ~ 1970 年代の全量抽出による土壌中濃度から算出した OCPs の半減期は概ね 5 年以下であり、1980 年代以降の土壌中濃度から算出した OCPs の半減期は概ね 10 年以上となった (Table 2)。ここでは最高濃度の年以降、重要な α -HCH と *p,p'*-DDT の投入が無いと仮定しているが、灌漑水や大気降下物等からの移入も否定できないため、真の半減期は本研究で算出されたみかけの半減期よりも短いかもしれない。特に、ディルドリンについては、その投入が推察されるため、真の半減期は Table 2 の値よりもさらに短いかもしれない。

Fig. 3 Temporal changes in OCPs concentration (ng/g-DW) in paddy soils obtained by the exhaustive extraction

Fig. 4は逐次抽出による各画分 [50 %メタノール・水 (v/v) 画分, *n*-ブタノール画分, ジクロロメタン画分] の割合の経年変化を示した。ディルドリン, *p,p'*-DDTでは明確ではないが, α -HCHでは, 経年的に50 %メタノール・水 (v/v) 画分の割合が減少し, ジクロロメタン画分の割合が増加する傾向にあった。これは, 本研究で用いた逐次抽出法により土壤中ピレンの6か月にわたるエージング過程を追跡した Macleod ら¹⁹⁾ の結果と一致し, α -HCHについては経年的にアベイラビリティーが減少しエージングが生じていると思われる。そこで, α -HCH, ディルドリン, *p,p'*-DDTの各画分の抽出率と1963年を0年とした場合の経過年数との間で相関分析を行った結果, α -HCHの50 %メタノール・水 (v/v) 画分で負の有意な相関 ($P < 0.01$), α -HCHのジクロロメタン画分で正の有意な相関 ($P < 0.01$) が確認された (Table 3)。同一地点で土壌を採取したにもかかわらず, 経年的に α -HCHの50 %メタノール・水 (v/v) 画分の割合が減少し, ジクロロメタン画分の割合が増加するという現象が生じているのは, 水田土壌においてエージングが進行し, 経年的に α -HCHのアベイラビリティーが変化してきたためであると考えられる。 α -HCHは, 1960 ~ 70年代においては揮発, 流出, 分解されやすい画分, すなわちアベイラビリティーが高い画分が主に経年的に消失し, アベイラビリティーが低い画分の割合が増加してきたと推察される。したがって, α -HCHを使用していた時期と現在とではアベイラビリティーが異なるため, 土壌中 α -HCHの微生物分解や作物移行等の試験を行う場合, α -HCH標準物質を土壌に添加するよりも汚染土壌を用いたほうが現在の環境を反映した結果を得ることができると思われる。一方, ディルドリン, *p,p'*-DDTの各画分の抽出率と経過年数との間には有意な相関関係は確認できず, 高い K_{ow} を有する物質については逐次抽出法によるエージング過程の評価は難しいのかもしれない。

ここで注意しなければならないのは, 全量抽出により得られるOCPs, 特に α -HCH濃度は, 1960年代から2002年にかけて100分の1程度に減少している (Fig. 3) のに対して, 50 %メタノール・水画分の割合はそれに見合った減少を示していない点 (Fig. 4) である。すなわち, 本法はアベイラビリティーが高いOCPsの50 %メタノール・水画分のみが経年的に減少する, というようなエージング過程の定量的な評価は難しいことを示している。しかし, これ

Table 2 The half-lives of OCPs for disappearance (year) obtained by the exhaustive extraction from the paddy soils

	1963-1978			1981-2002		
	Half-lives for disappearance	95% confidence interval		Half-lives for disappearance	95% confidence interval	
		Lower	Upper		Lower	Upper
α -HCH	2.6**	2.3	3.2	9.3*	5.2	40.4
Dieldrin	3.7*	1.9	19.2	15.2	6.2	87.8
<i>p,p'</i> -DDT	4.6**	3.2	8.6	13.2*	6.6	43.4

*, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$

Table 3 Results of liner regression analysis between the extractability of OCPs with the 50 % methanol-aq, *n*-butanol and dichlorormethane, and the progress number of years

	50% methanol-aq. fr.				<i>n</i> -buthanol fr.				Dichloromethane fr.		
	Slope	Intercept	R ²		Slope	Intercept	R ²		Slope	Intercept	R ²
α -HCH	-0.0027	0.53	0.61 **		0.00024	0.34	0.0056		0.010	0.092	0.77 **
Dieldrin	-0.00033	0.37	0.018		-0.001521	0.53	0.21		0.0018	0.097	0.26
<i>p,p'</i> -DDT	0.0000034	0.069	0.0030		-0.00050	0.84	0.077		0.00050	0.091	0.083

**, $P < 0.01$

まで述べたようにエージング過程の定性的な評価には適用可能であり, さらに多地点のSOC含量が異なる土壌について逐次抽出法を適用し, OCPsのエージング速度を比較することで, 詳細な解析が可能になると期待される。

要 約

有機塩素系農薬およびその代謝物 (OCPs) が残留している土壌

Fig. 4 Temporal changes in the OCPs extractability (%) in paddy soils by the sequential extraction

有機炭素 (SOC) 含量が異なる 3 種の土壌 (砂丘未熟土, 褐色低地土, 黒ボク土) を 50 % メタノール・水 (v/v) および *n*-ブタノールを用いた振とう抽出, ジクロロメタンを用いたソックスレー抽出の順に逐次抽出した。その結果, 50 % メタノール・水 (v/v) による抽出では, OCPs のオクタノール・水分分配係数 (K_{ow}) が低い物質, SOC が少ない土壌において抽出率が高い傾向が得られることが分かった。さらに, OCPs の K_{ow} が高い物質ほど 50 % メタノール・水 (v/v) 抽出で得られる土壌吸着平衡係数 (K_d) を SOC 含量で補正した土壌吸着平衡係数 (K_{oc}) が高い傾向にあることが分かった。1960 年代以後同一圃場で経年的に採取された水田土壌中 OCPs を逐次抽出した結果, ディルドリン, *p,p'*-DDT では明確ではなかったが, α -HCH では経年的に 50 % メタノール・水 (v/v) 画分の割合が減少し, ジクロロメタン画分の割合が増加する傾向にあった。すなわち, 土壌中 α -HCH のアベラビリティが高い画分が経年的に消失し, アベラビリティが低い画分の割合が増加することを確認できた。このように, 極性の異なる 3 種の溶媒により土壌を逐次抽出することにより, 長期にわたる土壌中 OCPs, 特に α -HCH のエージング過程を定性的に評価できた。

謝 辞

本研究の一部は, 農林水産省「生産・流通・加工工程における体系的な危害要因の特性解明とリスク低減化技術の開発 (POPs) PO-2111」によった。

文 献

- 井上 晋次: 水銀剤の興廃, DDT, BHC, パラチオンの足跡, 日本植物防疫協会 (1978)
- 日本植物防疫協会, 農業要覧, 東京 (1958 ~ 1975)
- Meijer, S.N., Halsall, C.J., Harner, T., Peters, A.J., Ockenden, W.A., Johnston, A.E. and Jones, K.C.: Organochlorine pesticide residue in archived UK soil. *Environ. Sci. Technol.*, **35**, 1989-1995 (2001)
- Kim, Y.S., Eun, H., Katase, T. and Fujiwara, H.: Vertical distributions of persistent organic pollutants (POPs) caused from organochlorine pesticides in a sediment core taken from Ariake bay, Japan. *Chemosphere*, **67**, 456-464 (2007)
- Tanabe, S., Iwata, H. and Tatsukawa, R.: Global contamination by persistent organochlorines and their ecotoxicological impact on marine mammals. *Sci. Total Environ.*, **154**, 163-177 (1994)
- Edwards, C.A.: Insecticides in soils. pp 83-132. "Residue reviews" Edited by Gunther F. A., Springer-Verlag, New York (1966)
- Alexander, M.: Aging, bioavailability and overestimation of risk from environmental pollutants. *Environ. Sci. Technol.*, **34**, 4259-4265 (2000)
- Gevao, B., Jones, K.C., Semple, K.T., Craven, A. and Burauel, P.: Nonextractable pesticide residues in soils. *Environ. Sci. Technol.*, **37**, 139A-145A (2003)
- Yamada, T.: Bound residues of 4-Aminophenyl 2,4,6-trichlorophenyl ether and 4-Aminophenyl 2,4-dichlorophenyl ether in paddy soil treated with CNP (Chlornitrofen). *J. Pestic. Sci.*, **8**, 33-39 (1983)
- Cabrerizo, A., Dachs, J. and Barceló, D.: Development of a soil fugacity sampler for fetermination of air—soil partitioning of persistent organic pollutants under field controlled conditions. *Environ. Sci. Technol.*, **43**, 8257-8263 (2009)
- Hatzinger, P.B. and Alexander, M.: Effect of aging of chemicals in soil on their biodegradability and extractability. *Environ. Sci. Technol.*, **29**, 537-545 (1995)
- Reid, J.B., Stokes, D.J., Jones, K.C. and Semple T.K.: Nonexhaustive cyclodextrin-based extraction technique for the evaluation of PAH bioavailability. *Environ. Sci. Technol.*, **34**, 3174-3179 (2000)
- Morison, E.D., Robertson, K.B. and Alexander, M.: Bioavailability to earthworms of aged DDT, DDE, DDD, and Dieldrin in soil. *Environ. Sci. Technol.*, **34**, 709-713 (2000)
- Krauss, M., Wilcke, W. and Zech, W.: Availability of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) to earthworms in urban soils. *Environ. Sci. Technol.*, **34**, 4335-4340 (2000)
- Otani, T., Seike, N. and Sakata, Y.: Differential uptake of dieldrin and endrin from soil by several plant families and *Cucubita* genera. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **53**, 86-94 (2007)
- Tao, S., Xu, F., Liu, W., Cui, Y. and Coveney, R.M.: A chemical extraction method for mimicking bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons to wheat grown in soils containing various amounts of organic matter. *Environ. Sci. Technol.*, **40**, 2219-2224 (2006)
- Sakai, M., Seike, N., Murano, H. and Otani, T.: Relationship between dieldrin uptake in cucumber and solvent extractable residue in soil. *J. Agric. Food Chem.*, **57**, 11261-11266 (2009)
- Ma, L., Zhang, J., Han, L., Li, W., Xu, L., Hu, F. and Li, H.: The effects of aging time on the fraction distribution and bioavailability of PAH. *Chemosphere*, **86**, 1072-1078 (2012)
- Macload, C.J.A. and Semple, K.T.: Sequential extraction of low concentrations of pyrene and formation of non-extractable residue in sterile and non-sterile soils. *Soil Biol. Biochem.*, **35**, 1443-1450 (2003)
- 農耕地土壌分類委員会: 農耕地土壌分類第 3 次改訂版, 農業環境技術研究所資料, **17** (1995)
- IUSS Working Group WRB. World soil resources reports No. 103. "World reference base for soil resources 2006" Food and agriculture organization of the United Nations, Rome (2006)
- 山田 裕: 炭素: 乾式燃焼法, pp222-231, 「土壌環境分析法」, 土壌環境分析法編集委員会編集, 博友社, 東京 (1997)
- (財) 日本規格協会: 「工業用水・工業排水中のダイオキシン類及びコプラナー PCB の測定方法」, JIS K 0312:2005 (2005)
- Mackay, D., Shiu, W.Y. and Ma, K.C.: Pesticide chemicals, "Illustrated handbook of physical — chemical properties and environmental fate for organic chemicals. Volume V", Lewis publishers, New York (1997)
- Meylan, W.M. and Howard, P.H.: *J. Pharmaceutical Sci.*, **84**, 83-92 (1995)
- 金澤 純: 農薬の土壌中における動態, pp93-140, 「農薬の環境科学」, 合同出版, 東京 (1994)